

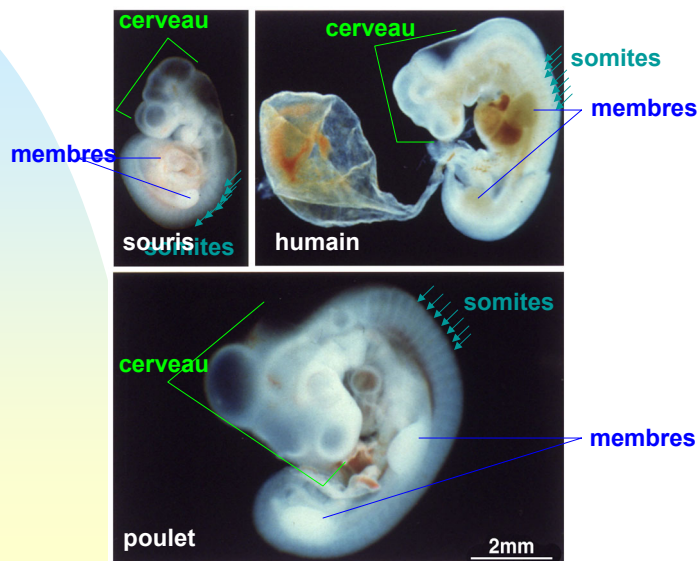
# Développement de la crête neurale

Heather Etchevers, Ph.D.  
M1 SANTÉ – Parcours GÉNÉTIQUE  
2006

08/06/2006

1

## Les corps des vertébrés se ressemblent pendant l'embryogenèse



08/06/2006

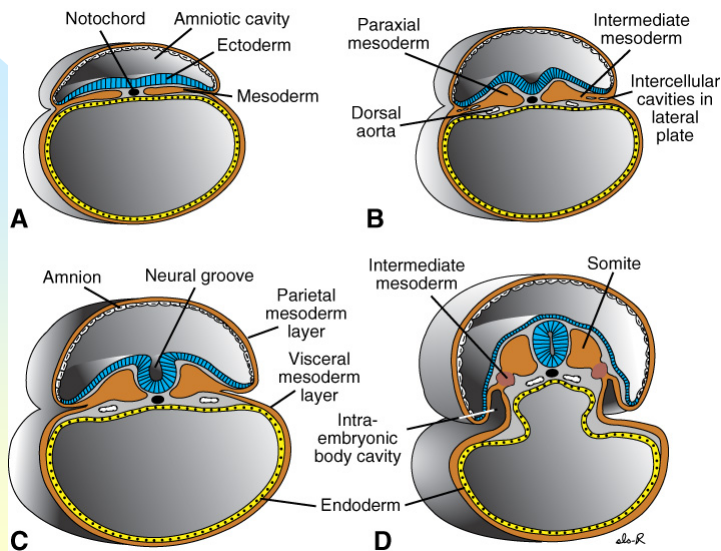
2

## Principes généraux

- Tous les animaux ont:
  - ◆ ectoderme
  - ◆ mésoderme
  - ◆ endoderme
- Les chordés :
  - ◆ notochorde
  - ◆ arcs branchiaux
- Les vertébrés :
  - ◆ crête neurale
  - ◆ mâchoires
  - ◆ quatre membres, cinq digits

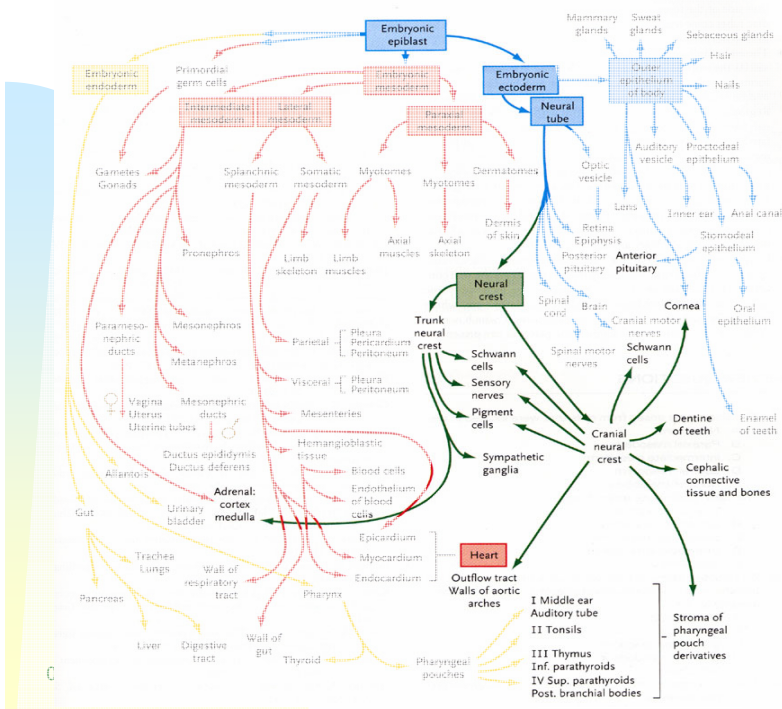
08/06/2006

3



08/06/2006

4



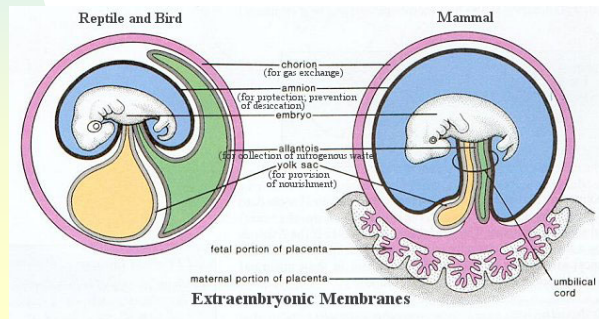
5

## L'embryogenèse comprend :

- Au cours du temps
  - ◆ Gastrulation
  - ◆ Neurulation
  - ◆ Somitogenèse
  - ◆ Mise en place des arcs branchiaux
  - ◆ Croissance des membres
- Organogenèse
- Forme et croissance

## Annexes embryonnaires

- Aussi faits des 3 feuillets
  - ◆ **chorion** (de l'œuf; ecto/méso)
  - ◆ **amnion** (ecto/méso)
  - ◆ **allantoïde** (méso/endo)
  - ◆ **sac vitellin** (méso/endo)



08/06/2006

7

## Modes d'hérédités

- |   |  |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Conventionnelle           <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Autosomique dominant</li> <li>➤ Autosomique récessif</li> <li>➤ Lié à l'X (récessif et dominant)</li> <li>➤ Hérité holandrique (lié à l'Y)</li> </ul> </li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Non conventionnelle           <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ <b>Mosaïque germinale</b></li> <li>➤ ADN mitochondrial</li> <li>➤ Empreintes parentales</li> <li>➤ Translocation chromosomique</li> <li>➤ Hérité multigénique</li> </ul> </li> </ul> |
|---|--|

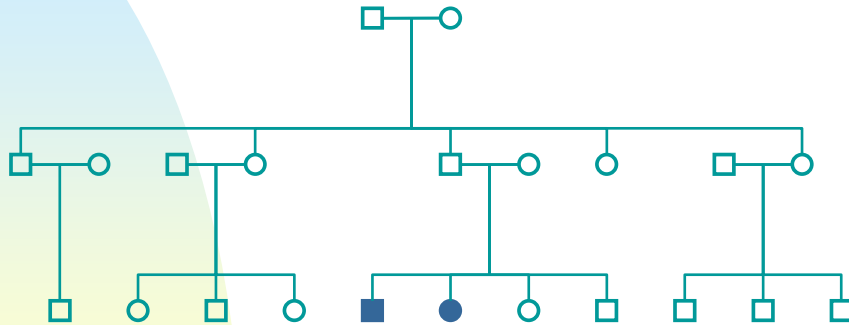
08/06/2006

8



## Mosaïques Germinales

Ex: Ostéogénèse imparfaite (10%)



Récidive d'une maladie à transmission autosomique dominante sans défaut de pénétrance

08/06/2006

9

## Exemple : Ostéogénèse imparfaite

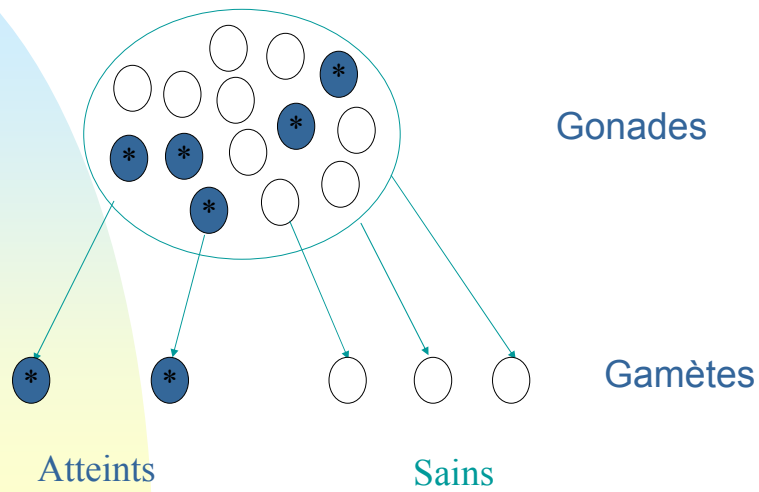
- Maladie des « os de verre »
- Fragilité osseuse excessive
- 5 types
- Collagénopathie : COL1A1, COL1A2



08/06/2006

10

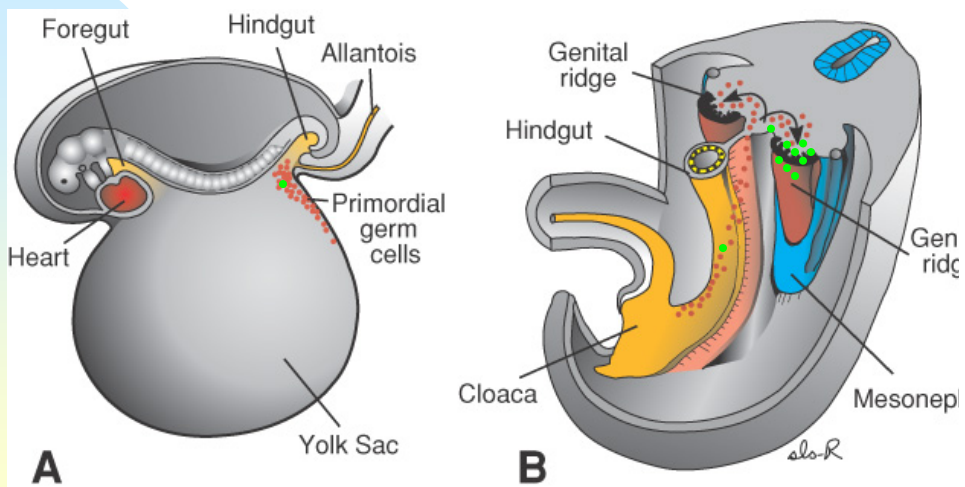
## Mosaïcisme au sein du gonade



08/06/2006


11

## Lignées mosaïques



08/06/2006


12

- 
- Tous les mutations somatiques chez l'embryon peuvent donner des tissus mosaïques
  - Certains vont entraîner des malformations congénitales sporadiques
  - Phénocopies des malformations congénitales transmissibles

08/06/2006

13

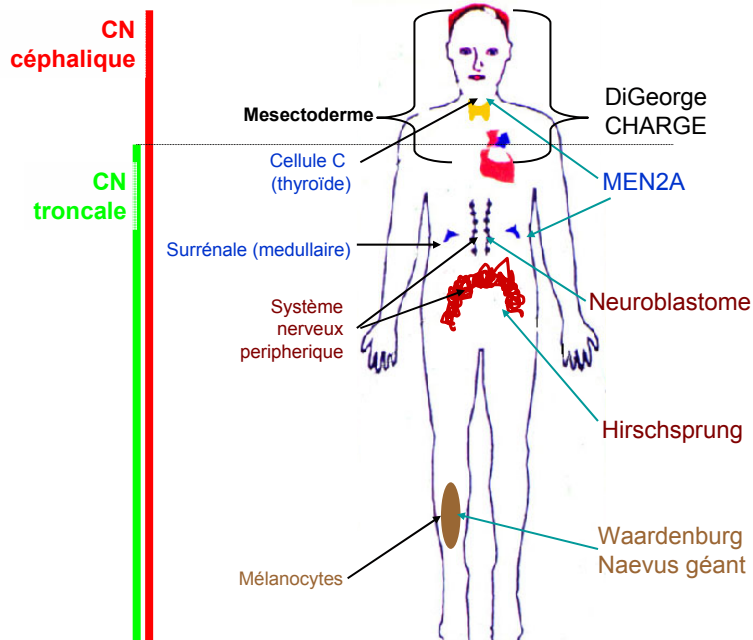
## Les neurocristopathies

- 
- Diverse classe de syndromes et maladies
    - ◆ Anomalies du développement des cellules de la CN
    - ◆ Atteintes embryonnaires à la :
      - ☞ Différenciation
      - ☞ Migration
      - ☞ Prolifération
      - ☞ Survie

08/06/2006

14

## Exemples de neurocristopathies



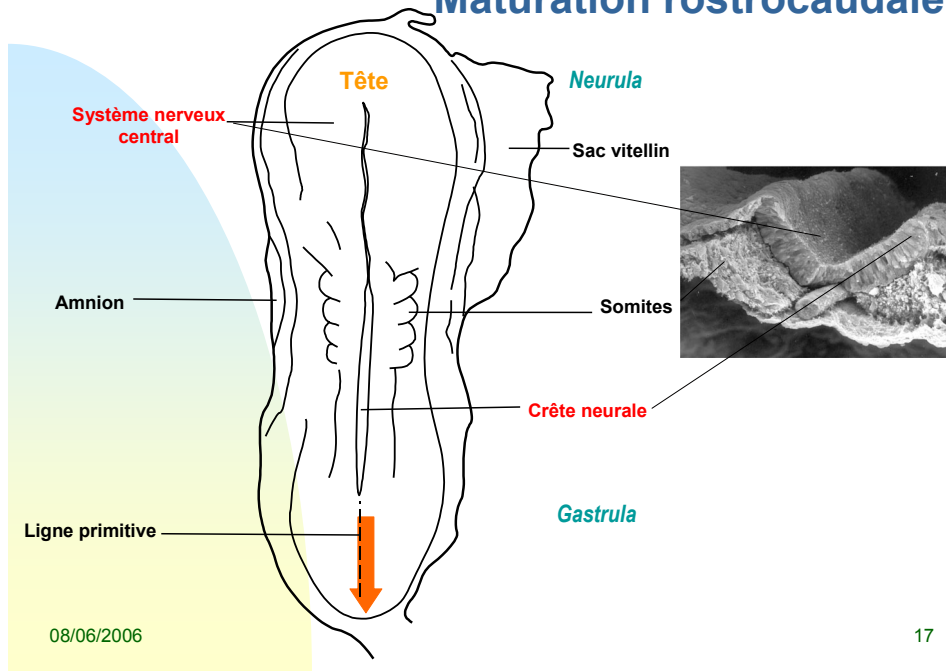
15

## Étiologies

- Une cause unique = multiples effets morphologiques
- Causes génétiques:
  - ◆ héréditaires: AD, AR, mosaïque germinale
  - ◆ sporadiques: mosaïque somatique ± précoce
- Lignée de cellules embryonnaires – concept du devenir
  - ◆ détermination vs plasticité

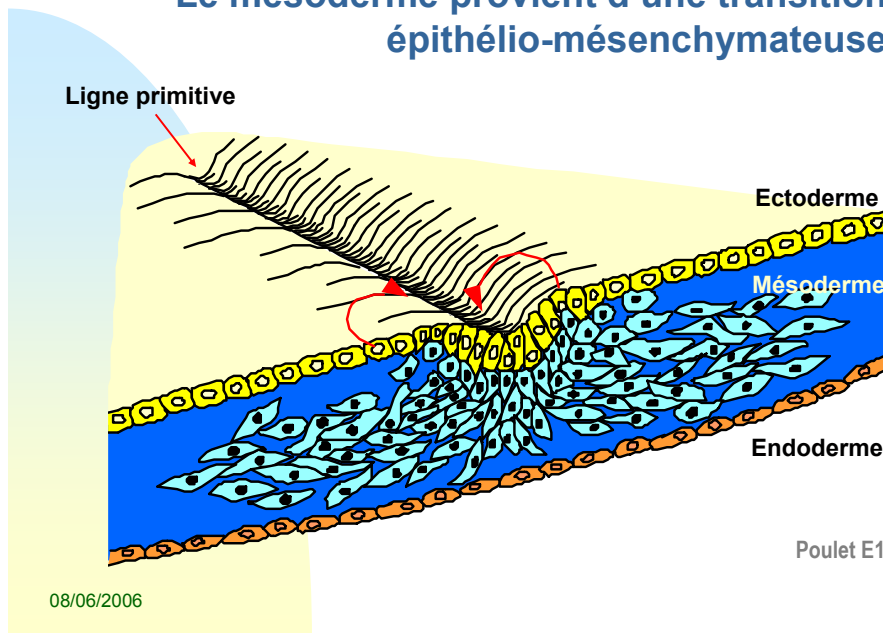


## Maturation rostrocaudale



17

## Le mésoderme provient d'une transition épithélio-mésenchymateuse

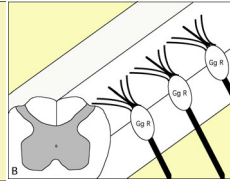
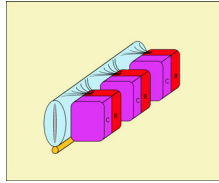


18

## Devenirs du mésoderme

- 1er mésenchyme du corps
- S'organise en structures épithéliales transitoires
  - ◆ Mésoderme axial devient notochorde
  - ◆ Mésoderme paraxial devient les somites – métamériques, par paires
  - ◆ Mésoderme intermédiaire et latérale – rein embryonnaire (mésonephros) et paroi du corps
- *Le notochorde établit l'axe rostrocaudal en sécrétant des facteurs de croissance*
- Les somites donnent des vertèbres, côtes, muscles...

08/06/2006

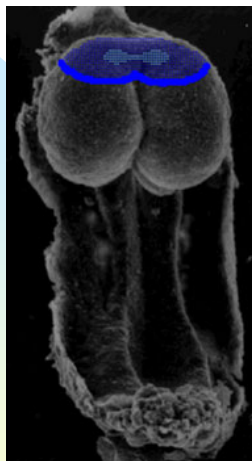


19

vue dorsale

rostral

caudal



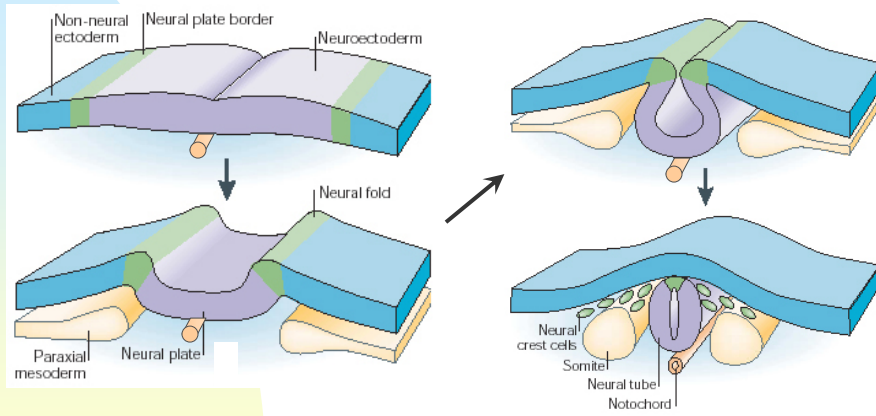
*embryon humain J20-21*

08/06/2006

- La plaque neurale se forme par un épaississement de l'ectoderme au-dessus du notochorde
- Le *neuroépithélium* se déforme par les mouvements cellulaires de convergence et d'extension
- Conservation des voies moléculaires (polarité planaire)

20

## La plaque neurale devient tube

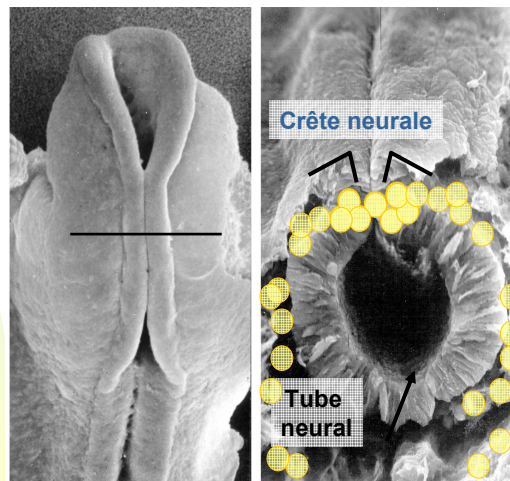


Gammill et Bronner-Fraser, *Nature Rev Neurosci*, 10/03

08/06/2006

21

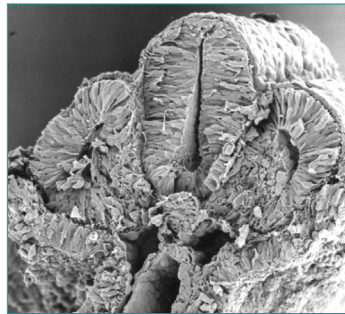
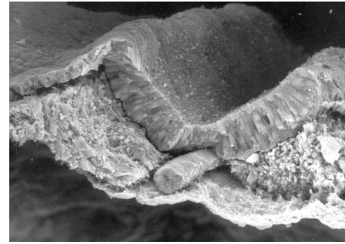
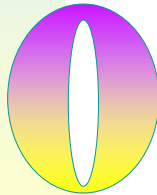
## La crête neurale (CN) provient de la frontière entre plaque neurale et ectoderme



08/06/2006

22

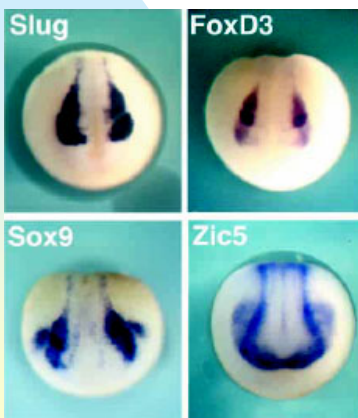
## L'axe latéromédial devient l'axe dorsoventral



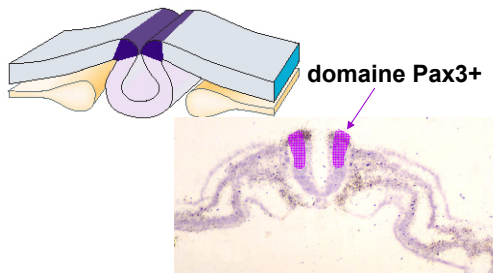
08/06/2006

Expressions  
chez le xénope  
(embryons entiers, vue  
dorsale, tête en bas)

## Exemples de transcrits dans les bourrelets neuraux



Monsoro-Burq et al., 2003



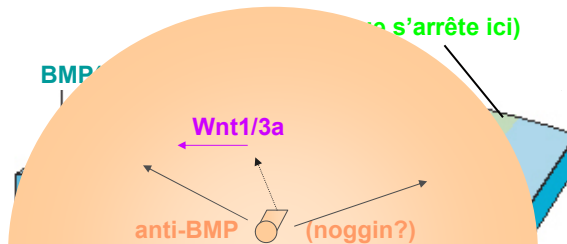
Les futures cellules de  
crête neurale sont soumises à  
une combinatoire complexe  
de facteurs environnementaux et  
de facteurs de transcription  
endogènes

08/06/2006



## Induction de la CN : où ?

- La plaque neurale répond aux signaux de l'ectoderme et vice-versa



Facteurs **Wnt** : molécules sécrétées qui régulent les interactions entre cellules pendant l'embryogenèse par leurs récepteurs Frizzled

Facteurs **BMP** : Protéines à signalisation multifonctionnels membres de la superfamille TGF $\beta$

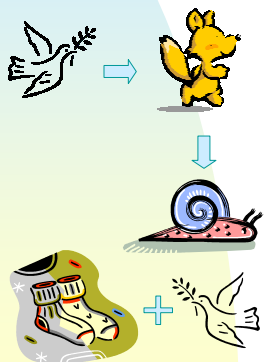
Famille **Dlx (1-6)** : facteurs de transcription à homéodomaine

08/06/2006

25

## Induction de la CN : quelles cellules ?

- De novo* expression de facteurs de transcription dans la CN prémigratoire :



- ♦ **FoxD3** (winged-helix, ouverture de chromatine, cible de **Pax3**, activateur dans tube neural dorsal)
- ♦ **Slug/Snail** (répresseurs à doigts de zinc, cible des Wnt et **FoxD3**)
- ♦ **Sox9/10** (activateurs, ouverture de chromatine, synergie avec **Pax3** pour certains gènes cibles)

08/06/2006

26



Expression de  
laminine  $\alpha 5$  chez le  
poulet (vue dorsale)

Gammill et Bronner-Fraser, 2002

08/06/2006

## Transition épithélio-mésenchymateuse

- Molécules d'adhésion cellulaire sur CN
  - ◆ Cadhérine 6B, N-cadhérine ↓ (entre cellules)
  - ◆ Laminine  $\alpha 5$  ↑ (composant matrice)
  - ◆ Intégrine  $\beta 1$  ↑ (adhésion aux protéines de la matrice)
- Mobilité cellulaire
  - ◆ Slug (expression aussi pendant gastrulation)
  - ◆ Cascades modifiant cytosquelette

27

## Migration de la CN

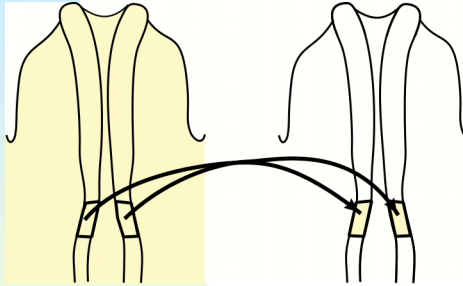
- Molécules locaux qui permettent ou restreignent la migration
  - ◆ Fibronectines, collagènes, laminines, aggrecans, perlecan, hyaluronan ...
- Différents chemins dans tête et corps - barrières
- Distribution des cellules CN partout chez l'embryon
- Différenciation sur place

08/06/2006

28

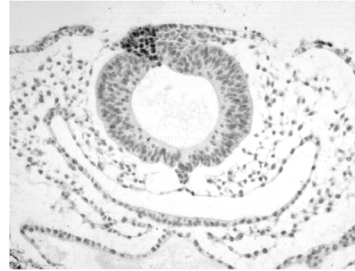


## Technique de chimères caille-poule (Le Douarin, 1968)



Donneur caille

Hôte poule



Cellules de caille reconnaissables par :

- Coloration histologique du hétérochromatine (Feulgen)
- Anticorps monoclonal spécifique à la caille (QCPN)
- Marquage **INDELIBLE** pour une cartographie des dérivés

08/06/2006

29

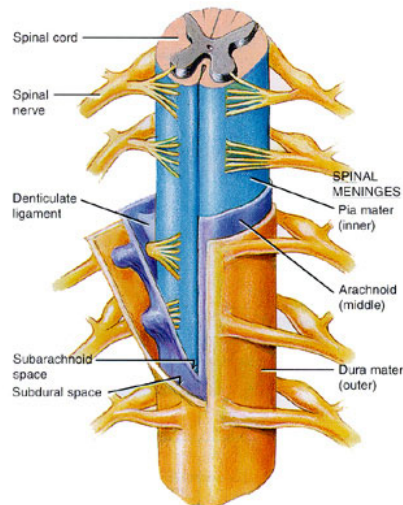
## Migration dans le corps

- Barrières physiques :
  - ◆ Somites
    - ☞ dermamyotome (réfractaire)
    - ☞ sclérotome (permissif)
  - ◆ Aortes dorsaux
  - ◆ Tube digestif
- Barrière temporelle
  - ◆ Colonisation du dermatome (vague dorso-ventrale)
  - ◆ Colonisation du tube digestif (vague rostro-caudale)

08/06/2006

30

## Les mêmes gènes régulent la segmentation du SNC, du SNP et des somites

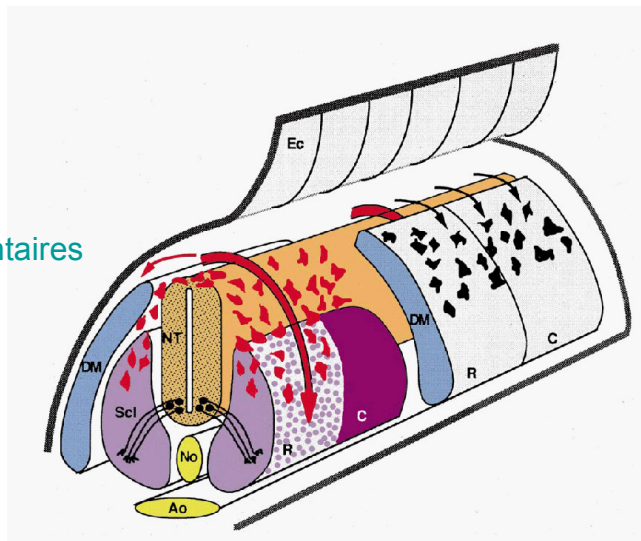


08/06/2006

31

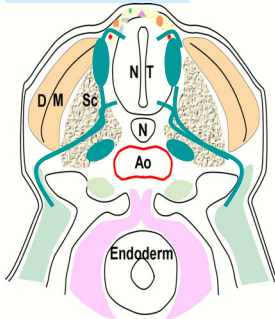
## Dérivés de la crête neurale (niveau tronc)

- Tout le SNP
  - ◆ glie
  - ◆ neurones
  - ◆ soutien
- Cellules pigmentaires
- Cellules endocriniennes



08/06/2006

## Segmentation et CN

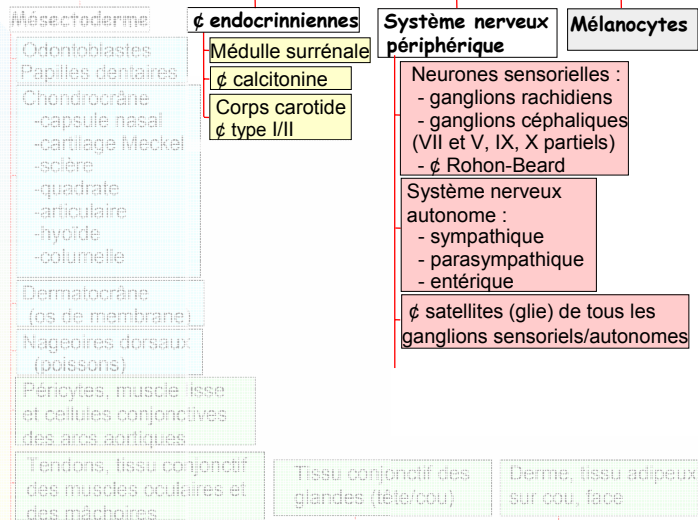


- Migration ventro-médiale de CN initialement **entre** tube neural et somite (vers chaîne sympathique)
- Maturation du somite
  - ◆ dissociation du sclérotome
  - ◆ maintien du dermamyotome épithéliale
- A ces niveaux, CN pénètre le sclérotome de **la moitié rostrale du somite** uniquement
- Association 1 paire GS, GR, nerfs par segment

08/06/2006

33

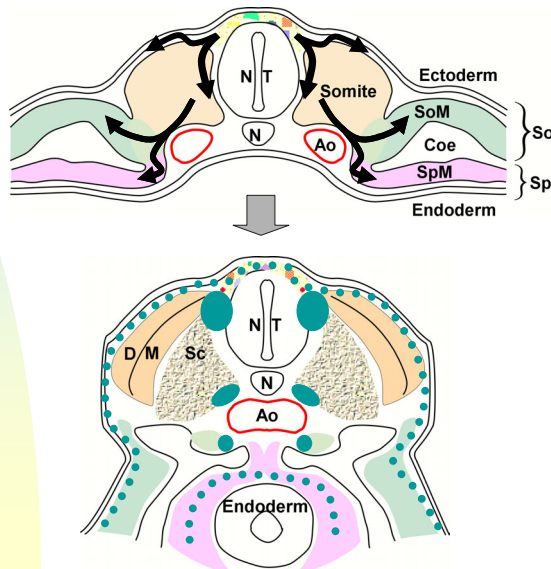
## Dérivés de la crête neurale



08/06/2006

34

## Schéma des voies de migration dans le tronc



08/06/2006

35

## Les dérivés dépendent de la voie empruntée

- Ventro-médiane
  - ◆ Ganglions entériques
  - ◆ Médulle surrénale
  - ◆ Ganglions sympathiques
- Ventro-latérale
  - ◆ Ganglions rachidiens
  - ◆ Glie des nerfs périphériques
  - ◆ Ganglions sympathiques
- Dorso-latérale
  - ◆ Mélanocytes

08/06/2006

36

## La peau et l'intestin sont des champs énormes à coloniser



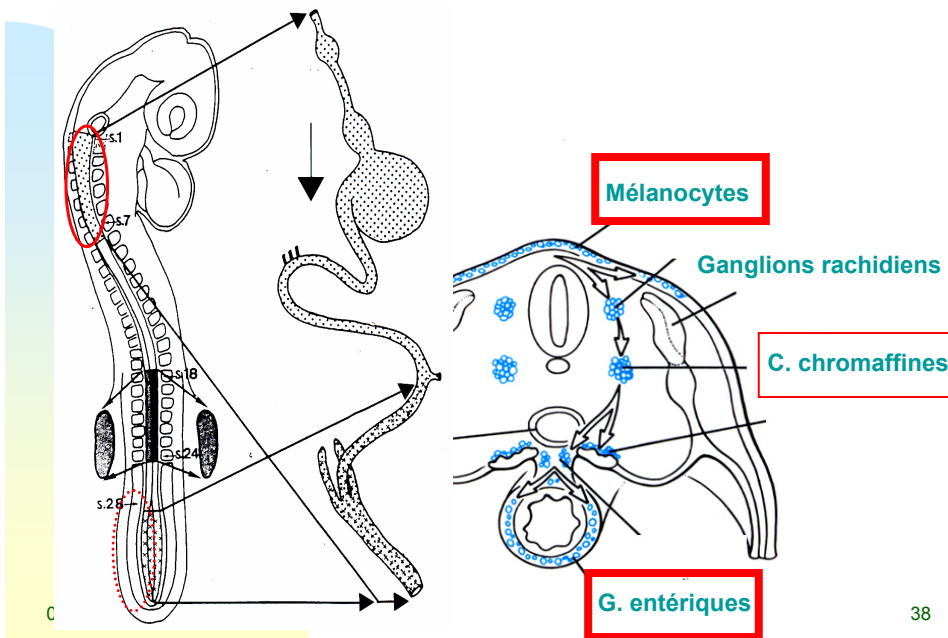
© The Jackson Laboratory

08/06/2006

- Colonisation dorso-ventrale de la peau insuffisante : variants de pigmentation avec ventre pale
- Colonisation rostro-caudale insuffisante : mégacolon (absence de ganglions entériques, accumulation de matière fécale) = Hirschsprung

37

## Maladie d'Hirschsprung



38

## Neurocristopathies complexes



18kg megacolon de 1892 !  
Mütter Museum, Philadelphia, PA



© The Jackson Laboratory



©2002 - Sasheena

08/06/2006

- Waardenburg: HSCR syndromique avec atteintes à la pigmentation, parfois surdité

### G nes impliqués

- ◆ Facteurs de croissance (signal-recepteur)
  - ⤵ Endothéline 3, EDNRB
  - ⤵ Stem cell factor, C-KIT
- ◆ Facteurs de transcription
  - ⤵ PAX3, SOX10, SNAI2 (Slug)
  - ⤵ MITF (  Slug, c-kit?)

39

## Migration dans la tête

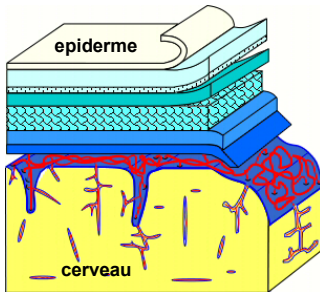
- Contraintes physiques :
  - ◆ les yeux
  - ◆ les vésicules otiques
  - ◆ les arcs branchiaux
  - ◆ le flexion du cerveau
- Contraintes géniques
  - ◆ L'expression de gènes d'identité segmentaire conditionne la différenciation
  - ◆ Cr te plastique largement sous contrôle environnementale

08/06/2006

40



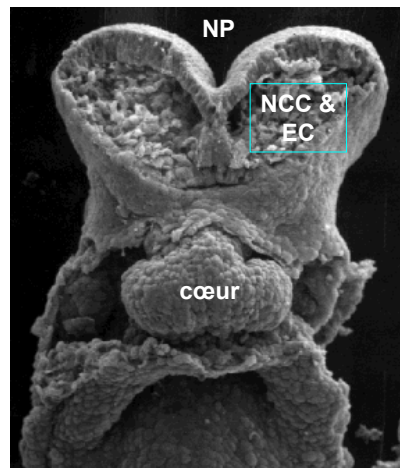
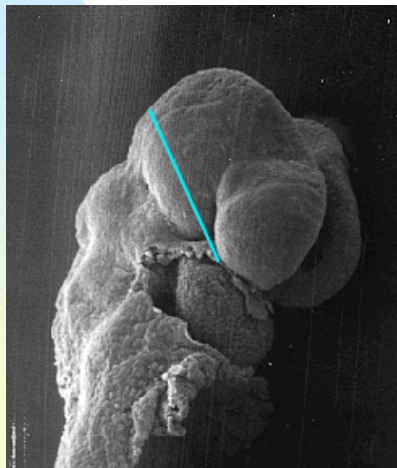
## Dans corps, ces dérivés = mésoderme mais dans tête, CN



- Derme, tissu adipeux
- Tendons, tissu conjonctif des muscles
- Tissu conjonctif des glandes céphaliques
- Bourgeons dentaires/odontoblastes
- Os/cartilage presque tout le crâne
- Tous les os de membrane
- Méninges du cerveau antérieur
- Péricytes/muscle lisse vasculaire du secteur branchial

41

## Mésenchyme de la tête = mésoderme + « mésectoderme » (CN)



Souris E8.5 merci à Dr. Kathy Sulik

08/06/2006

42

## Organisation du mésectoderme

- Qu'est-ce qui distingue une cellule mésenchymateuse de sa voisine?
  - ◆ programme génétique « cell-autonome »
    - ☞ déterminisme
  - ◆ programme génétique « non cell-autonome »
    - ☞ passivité dans environnement

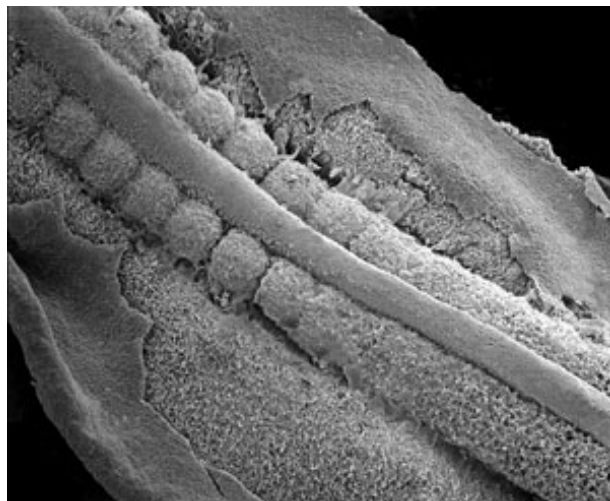
08/06/2006

43

## Les segments existent chez tous les animaux



embryon humain, 24 jours  
courtesy K. Sulik

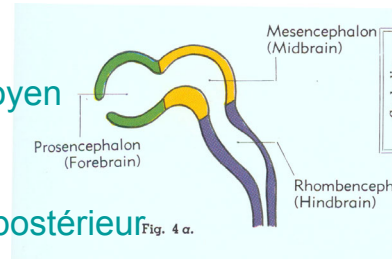


embryon de poulet (sans ectoderme)  
courtesy M. Catala

44

## Segments du cerveau

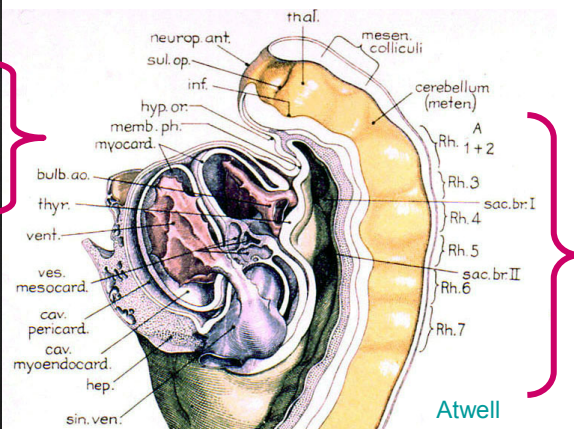
- « Vésicules » qui correspond aux constrictions morphologiques
- Stade 3 vésicules = ca. 3 semaines
  - ◆ **prosencéphale** : cerveau antérieur
    - ☞ cortex
    - ☞ hypothalamus...
  - ◆ **mésencéphale** : cerveau moyen
    - ☞ tecta
    - ☞ thalami...
  - ◆ **rhombencéphale** : cerveau postérieur
    - ☞ cervelet, médulle...



08/06/2006

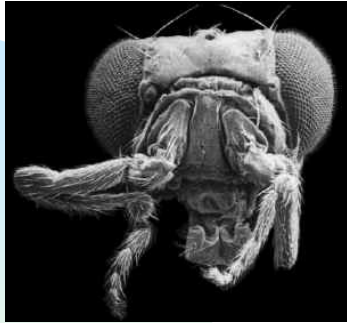
45

## Segments du rhombencephale = rhombomeres



08/06/2006  
courtesy K. Sulik

46



Antennapedia



Bithorax

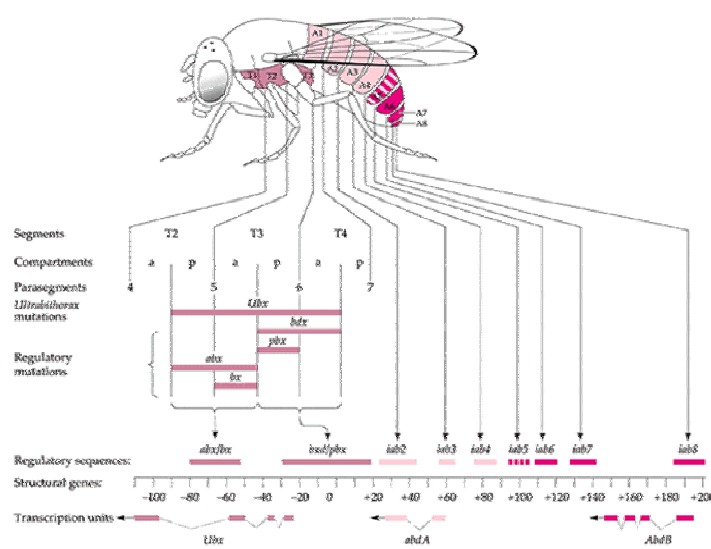


William Bateson, 1922.

08/06/2006

47

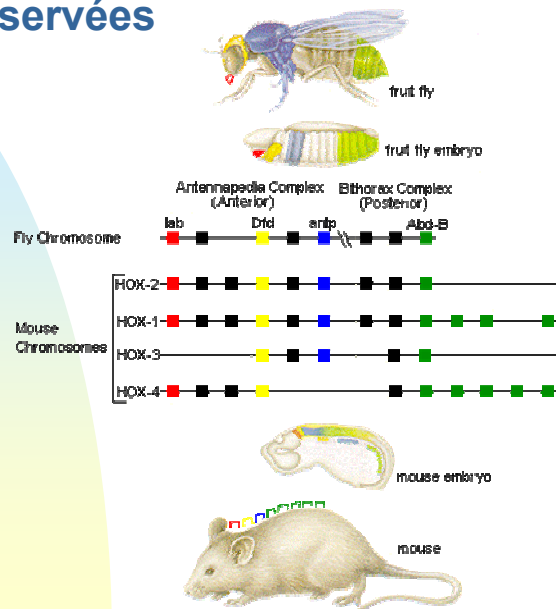
## Le devenir d'un segment est déterminé par l'expression des genes « Hox »



08/06/20

48

## La « colinéarité » et les séquences sont conservées

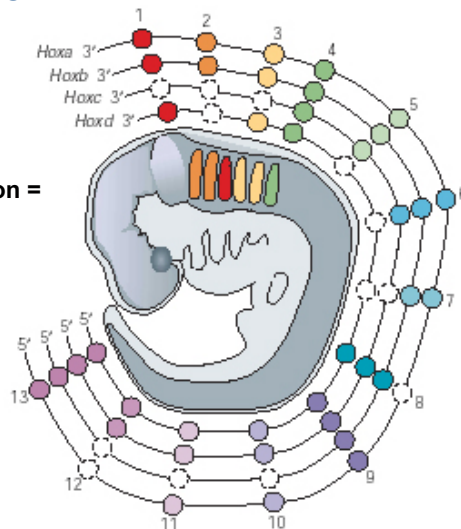


08/06/2006

49

## Les gènes *HOX* confèrent une identité segmentaire aux parties du corps à partir du rhombencéphale

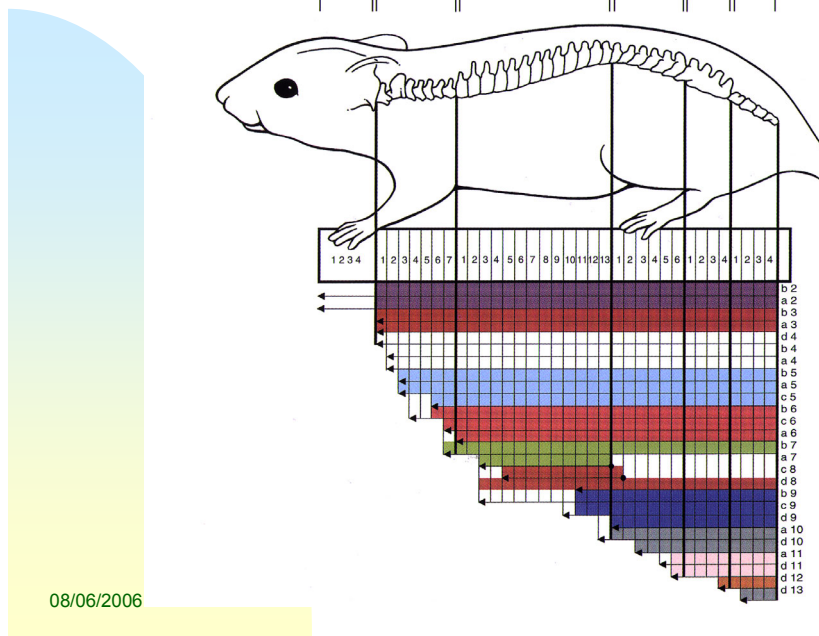
Combinatoire d'expression =  
« code HOX »



Santagati and Rijli, 2003

08/06/2006

50



08/06/2006

51

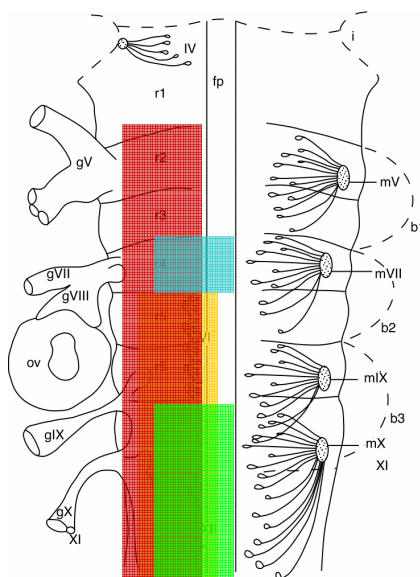
## Code Hox dans le cerveau postérieur

**Hoxa,b,2**

**Hoxa,b,d1**

**Hoxa,b,d3**

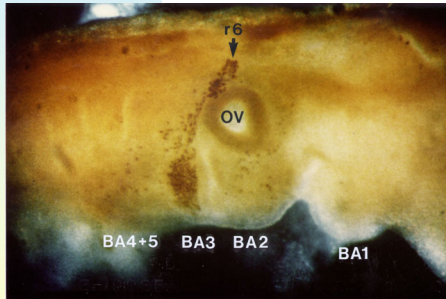
**Hoxa,b,c,d4**



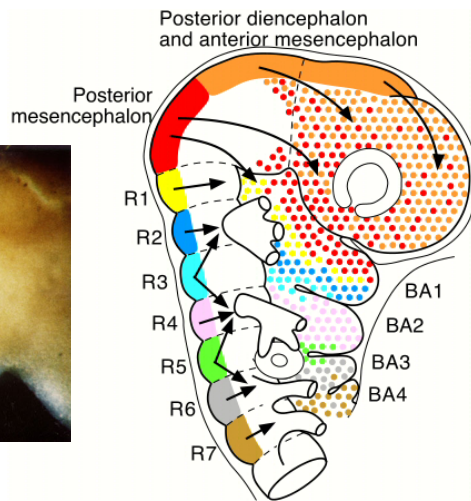


## Distribution « segmentaire » des cellules de la CN céphalique

**Chimère caille-poule rh.6**



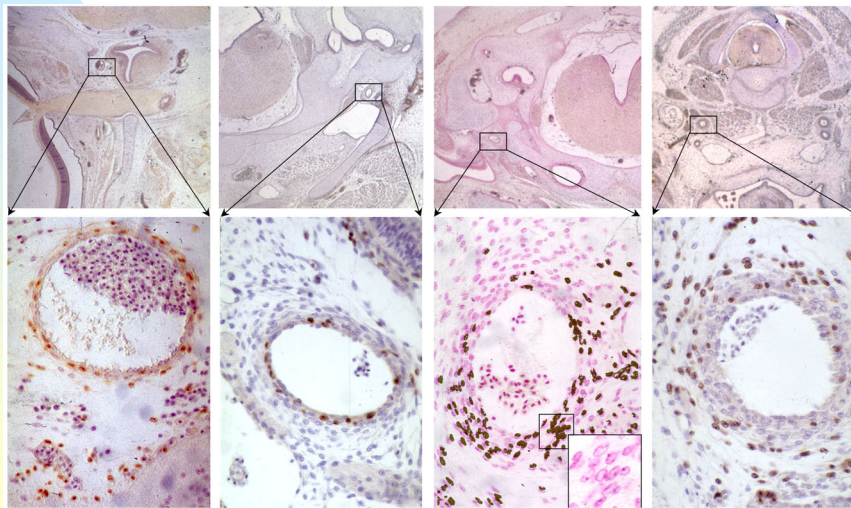
Le Douarin and Kalcheim, 1999



08/06/2006

53

## La CN de niveaux successifs du cerveau s'intègre dans différents vaisseaux



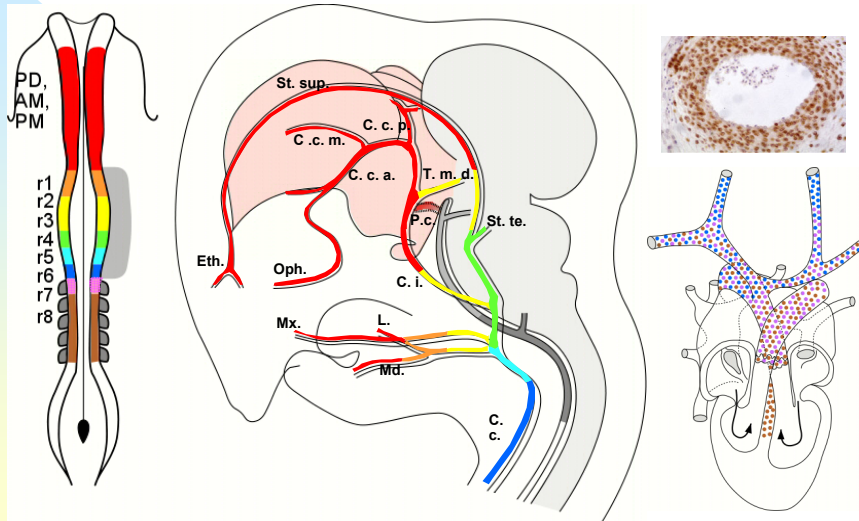
08. PD, internal carotid

r2, maxillary

r4, stapedian

r5, common carotid

## La CN céphalique participe aux vaisseaux branchiaux ainsi qu'à une partie du cœur



08/06/2006

55

## Caveat!

- Les ablations de la CN rhombencéphalique se reconstituent:
  - ◆ aucun effet morphologique
  - ◆ compensation rostral/caudal
- Ajouts de la CN rostral en échange du plus caudal: adaptation des cellules greffées
  - ◆ aucun effet morphologique
  - ◆ expression *de novo* de gènes *Hox* appropriés au nouveau niveau segmentaire

08/06/2006

56



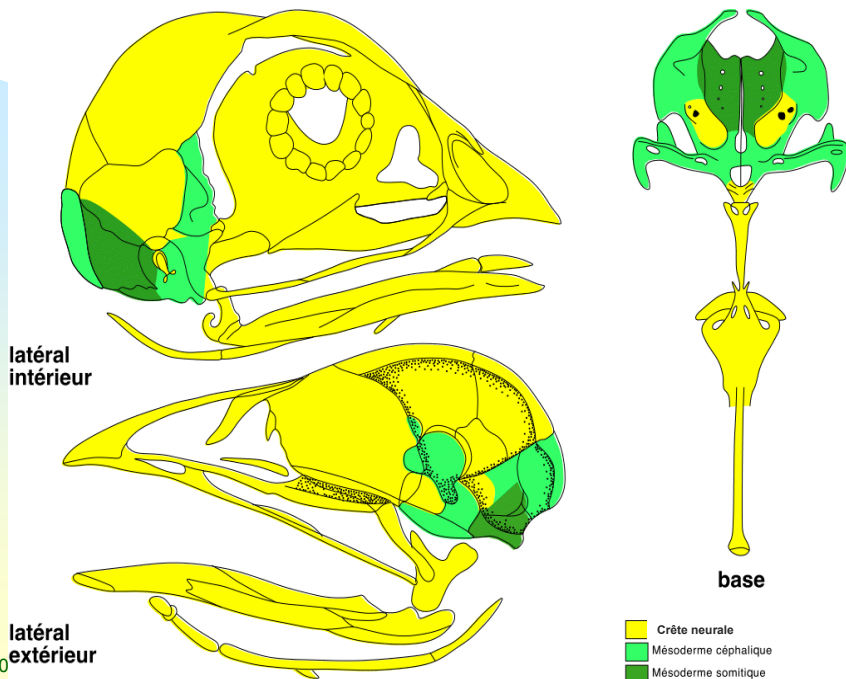
## Les greffes de mésoderme gardent leur code *Hox* après transplantation ectopique

Anterior to Posterior Transplant Summary					Posterior to Anterior Transplant Summary				
Stage	Donor 10	Host 12	Donor 11	Host 13	Stage	Donor 12	Host 10	Donor 13	Host 11
Somite Equivalent	9-14	19-24	12-16	20-26	Somite Equivalent	19-24	9-14	20-26	12-16
Surgeries					Surgeries				
Test host For	Hox a6 Hox c6		Hox c8 Hox c9		Test host For	Hox a6 Hox c6		Hox c8 Hox c9	

08/06/2006

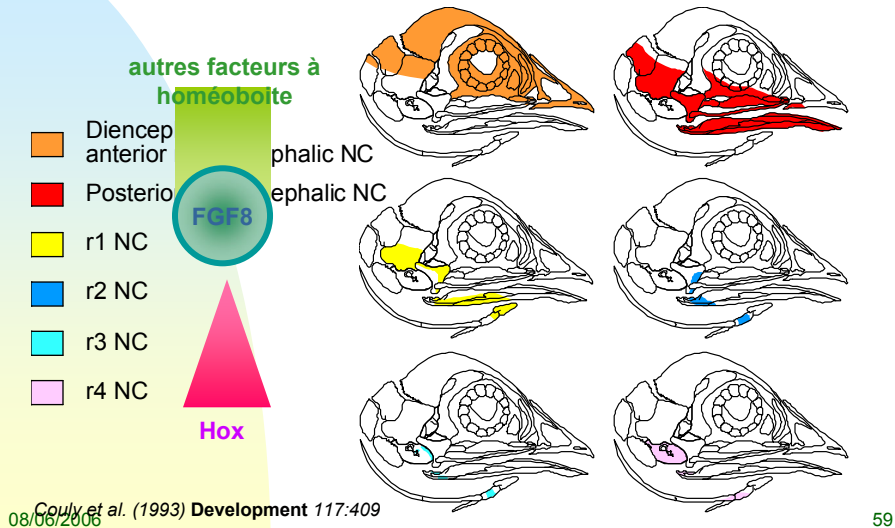
Nowicki and Burke (2000)

57

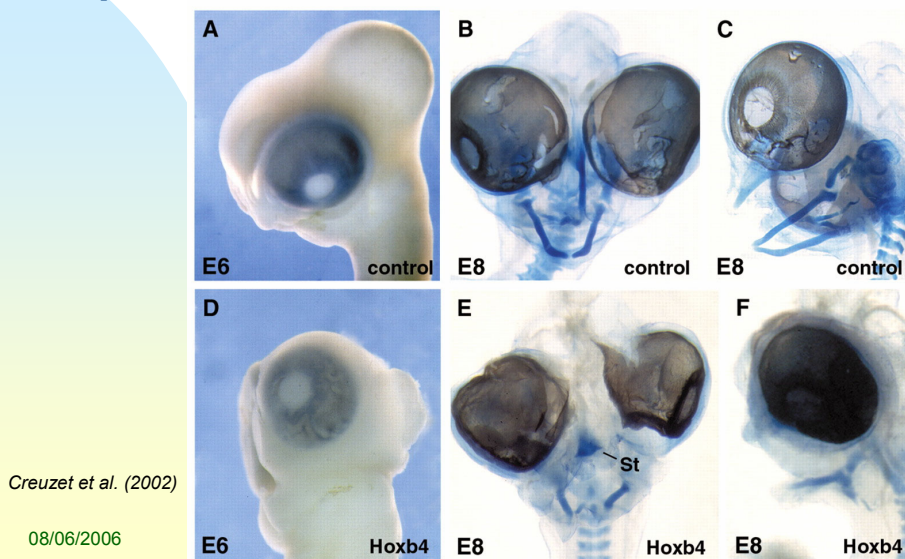


58

## Les cellules de CN exprimant les gènes *Hox* ne sont pas ostéogéniques



## Les gènes *Hox* et l'acide rétinoïque empêchent la formation du crâne par la CN



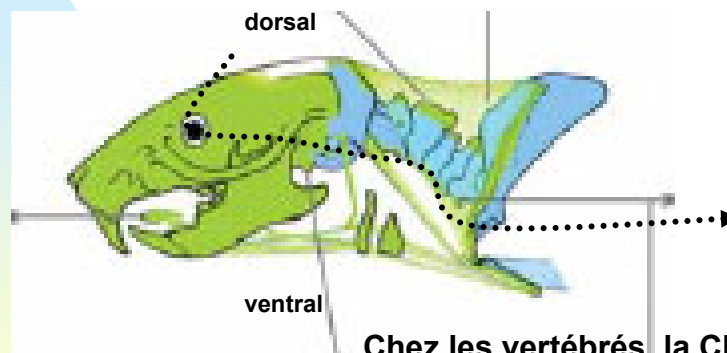
## Inversions du tube neural

- Aucun effet:
  - ◆ 180° segment diencephale – mésencéphale
  - ◆ 180° segment rhombencéphale caudal (± crête « vagale »)
  - ◆ 180° segment moelle épinière
    - ✎ CN troncal peut donner neurones entériques si placée au bon endroit
- CN troncal dans tête ne fait pas de cartilage (mais compensation possible par des voisins)
- CN céphalique dans corps fait petites nodules cartilagineuses

08/06/2006

61

## Le tissu conjonctif dérivé de la CN s'étend jusqu'aux épaules



**Chez les vertébrés, la CN a permis l'agrandissement des territoires du cerveau antérieur et des mâchoires**

*Matsuoka et al. (2005) Nature 436: 347*

08/06/2006

62

## Autonome ou non?

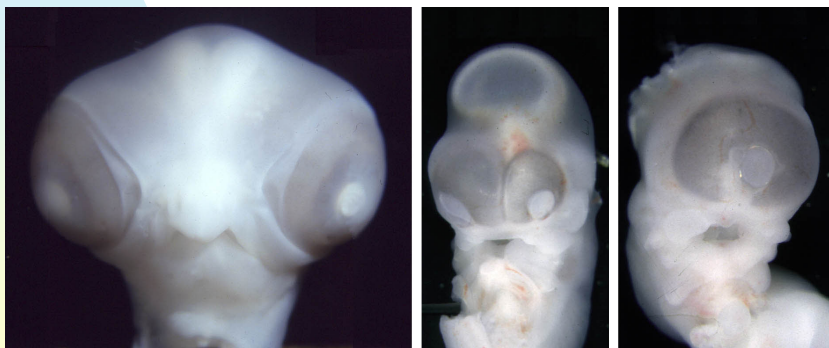
- Pas de « code *Hox* » inviolable pour le més ectoderme, mais:
- Restriction de devenir cellulaire si transcription de gènes *Hox*
- Aspects de déterminisme et de plasticité dans le devenir de la CN céphalique

08/06/2006

63

## Ablation de toute la CN céphalique *Hox*-

- ◆ Ressemble l'effet de cyclopamine (téatogène naturel)
- ◆ Aucune compensation osseuse par de la CN *Hox*+



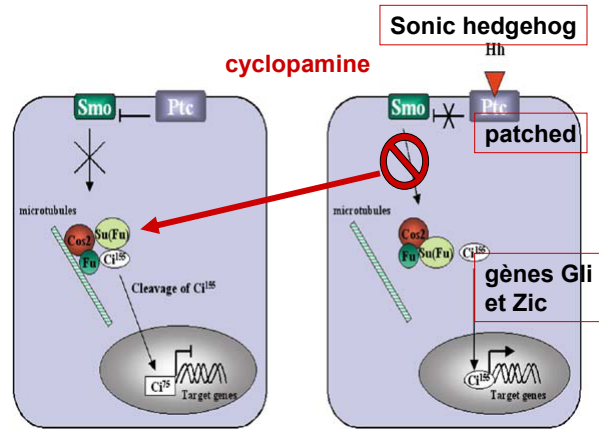
poulet normal J8

poulets sans CN à J8

08/06/2006

64

## Signalisation par les Hedgehogs

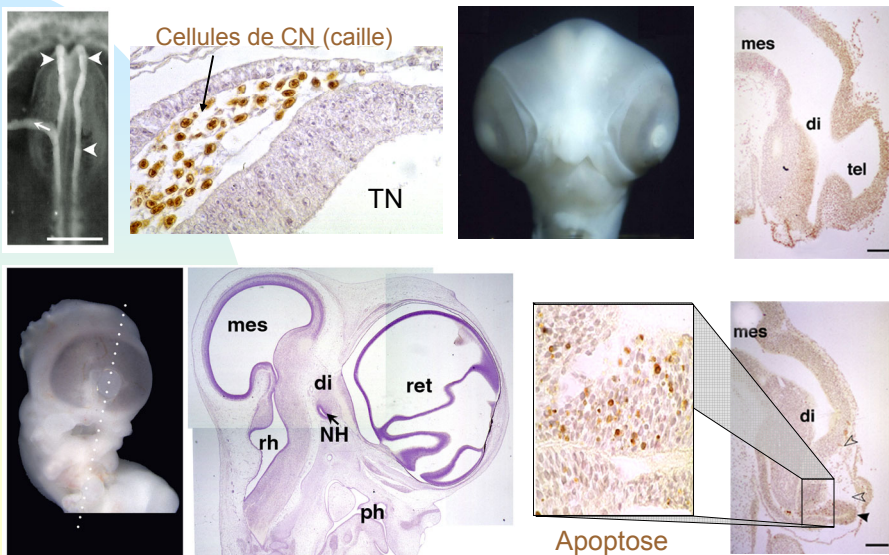


d'après van Tuyl et Post., 2002

08/06/2006

65

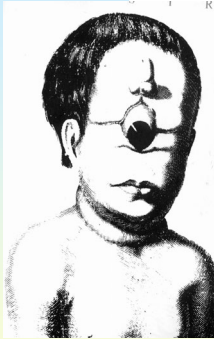
## La CN *Hox*- assure la survie du prosencéphale



Etchevers et al. (1999) *Development* 126:3533

66

## Formation du cerveau et visage vont ensemble

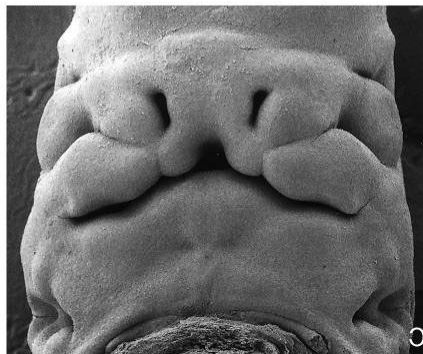
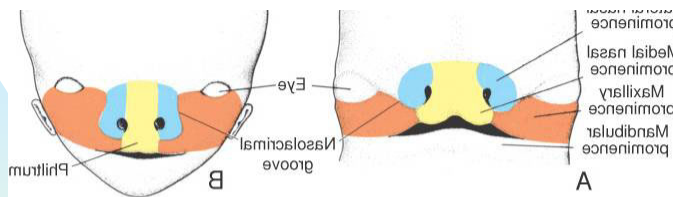


- Association malformations craniofaciales et holoprosencéphalie
  - ◆ Fentes labiopalatines
  - ◆ Hypodontie
  - ◆ Nez à orifice unique / proboscis
  - ◆ Hypotélorisme
- Malformations cardiaques

08/06/2006

67

## Formation du visage

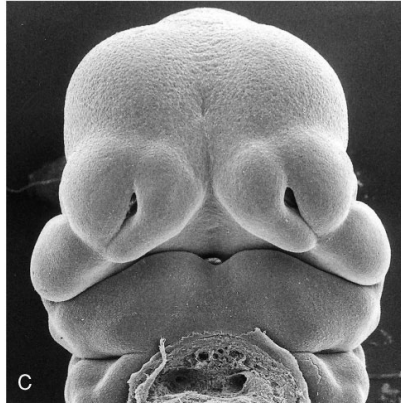
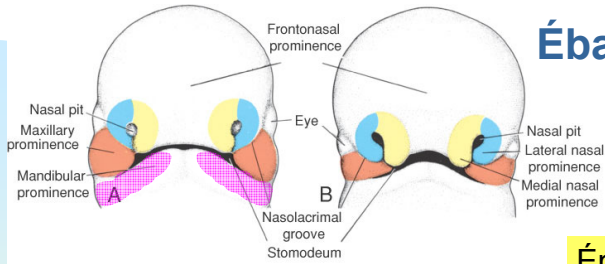


08/06/2006

68



## Ébauches faciales



### Éminence frontonasale

1er arc pharyngée (ou branchial)

partie maxillaire

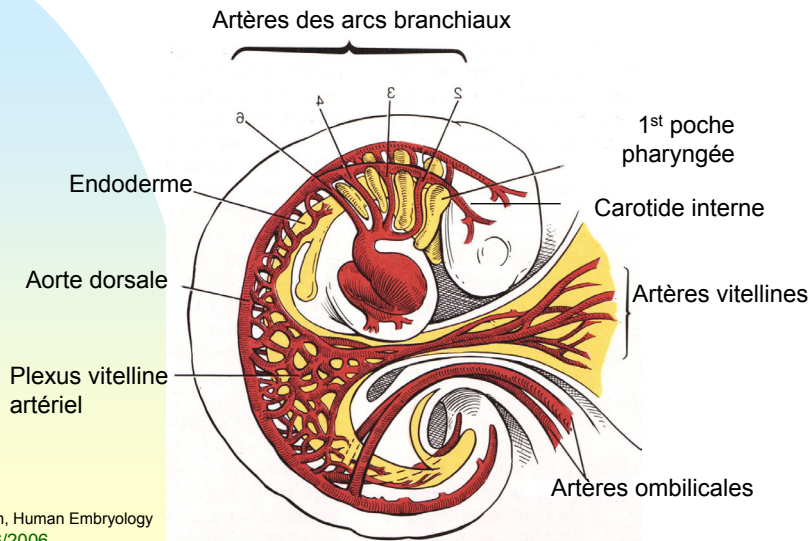
partie mandibulaire

2e arc pharyngée

3e, 4e, 6e arcs...

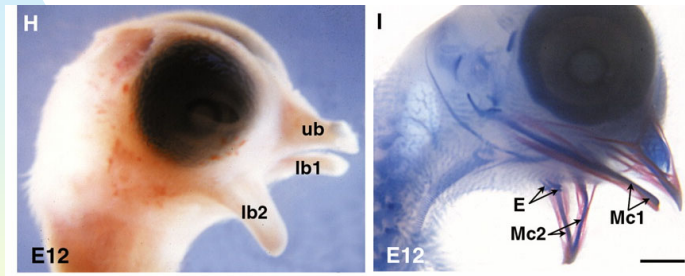
69

## Artères branchiales par rapport à l'endoderme



70

## L'endoderme pharyngien instruit tout la CN céphalique

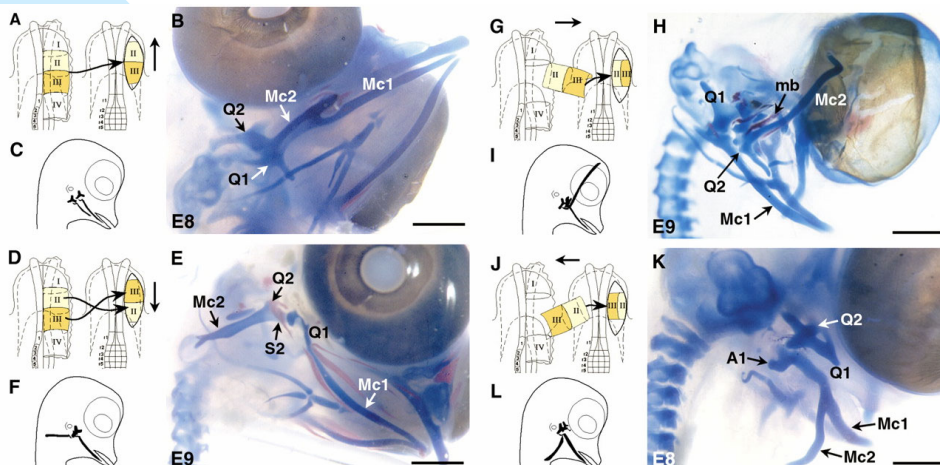


rajout d'un fragment de pharynx rostral en position retro-orbitale

Couly et al. (2002) *Development*  
08/06/2006

71

## L'endoderme impose son orientation rostrocaudale

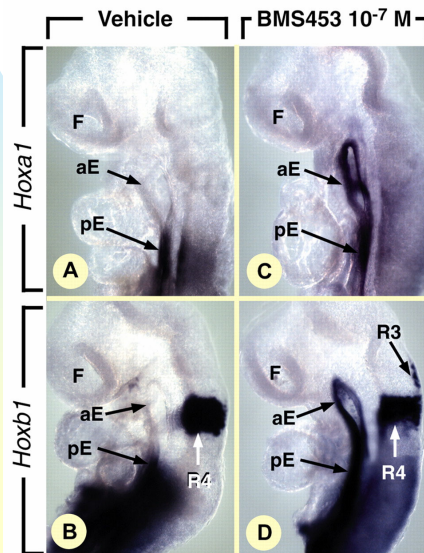


Couly et al. (2002) *Development*  
08/06/2006

72



## L'acide rétinoïque agit sur l'expression des gènes *Hox* dans l'endoderme



Un antagoniste au RAR $\beta$  reproduit l'effet tératogène d'AR sur la morphologie cranio-faciale

Matt et al. (2003) *Development* 73

08/06/2006

## L'endoderme pharyngien sculpte la CN des arcs branchiaux

- Artères des arcs aortiques
  - ◆ cascade initiée par HIF1 $\alpha$
- Formation des cartilages des arcs
  - ◆ AR, HoxA-HoxD classes 1-4
  - ◆ Shh endodermique
- Point d'attache de la sortie du coeur au dernier arc formé
  - ◆ Fgf8, Fgf10
  - ◆ Tbx1, Pax-9, autres...

08/06/2006

74

## Causes multigéniques de malformations

